

M D 5153

Közlemény

**A szegedi m. kir. Horthy Miklós Tudományegyetem
Gyógyszerészeti Intézete és Egyetemi Gyógyszertára
Laboratóriumából.**

Igazgató: DÁVID LAJOS dr. e. c. rk. tanár.

**ADATOK AZ A, B₁, C, D, VITAMINTARTALMÚ
GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK
ÉRTÉKMEGHATÁROZÁSÁHOZ.**

Doktori Értekezés

Írta:

BAK LAJOS

1943.

D 5153 M

B 5298

SZTE Egyetemi Könyvtár



J000710188



1566/1964

Éledelelünk fehérjéből, szénhidrátból, zsírból, sókból és folyadékból áll. Szervezetünk fenntartásához ezekből bizonyos mennyiséget kell naponta elfogyasztanunk. Csupán összetételben kellőnek látszó és mennyiségű vegytiszta anyagokkal azonban nem lehet a szervezet működését fenntartani.

Különféle vegytiszta tápanyagokat számtalan változatban keverték össze és ezen tartottak kísérleti állatokat, azt találták, hogy bizonyos idő múlva megbetegedtek, majd elpusztultak. Ellenben életben tarthatók voltak, ha táplálékukhoz kevés tejet keverték. Ebből arra következtettek, hogy az ismert anyagokon kívül a tejben olyan anyag van, mely az élet fenntartásához feltétlenül szükséges. Tápanyagoknak az élet fenntartásához szükséges részét Funk vitaminnak nevezte el /:vita és amin, vita = élet, és mivel azt hitte, hogy ez az ismeretlen anyag amin származék, ezért elnevezte vitaminnak./. Ez az anyag igen kis mennyisége igen nagy hatást képes kifejteni, nélkülük a szervezetet alkotó sejtek nem tudják testállományukat fenntartani és nem tudnak szaporodni.

A vitaminok tehát olyan organikus anyagok, melyek nem kalória mennyiségükkel, hanem pusztán jelenlétükkel szabályoznak bizonyos életfolyamatokat.

Ha a vitamin a táplálékból hiányzik, akkor a szervezet megbetegszik; ezt a betegséget vitaminhiánynak, avitaminosisnak nevezzük. Hogy a megbetegedést valóban vitamin hiánya okozza, azt úgy tudjuk megállapítani, hogy ha elegendő mennyiségű és minőségű vitamint viszünk a megbetegedett szervezetbe, mire a szervezetben mutatkozó káros folyamatok rövidesen megszűnnek.

Kutatások kiderítették, hogy többféle vitamin is van, sőt ugyanazon táplálék többféle vitamint is tartalmazhat. Amíg a vitaminok vegyi szerkezetét, kémiai és fizikai tulajdonságait nem ismerték, a kutatóknak igen nagy nehézségekkel kellett megküzdeniök, annál is inkább, mert egyes táplálékban egyes vitaminok igen kis mennyiségben fordulnak elő.

A vitaminok felfedezése két megfigyelésből indult ki: 1./ Felismerték, hogy egyes betegséget a táplálék valamely részének hiánya okozza. 2./ A mesterséges-vitaminmentestáplálékkal kezelt

állatok elpusztultak.

1906-ban Hopkins e két megfigyelésből megállapította a táplálékban levő bizonyos ismeretlen anyag és egyes betegségek közötti kapcsolatot.

Stepp további kutatásai megerősítették Hopkins véleményét, mely szerint a táplálékban olyan anyag van, melynek hiánya addig ismeretlen eredetű betegséget okozott.

Stepp kísérleti állatokat alkohollal és aetherrel kivont kenyérrel és tejjel etetett s azok megbetegedtek, de ismét egészségesek lettek, ha az aetherrel és alkohollal kivont anyagot táplálékukhoz hozzáadták.

1907-ben Holst és Frölich tengerimalacon scorbutot idézett elő egyoldalú táplálék alkalmazásával.

Eykmann azt tapasztalta, hogy hántolt rizsen tartott állatok beri-beriben megbetegedtek s a betegséget a rizs héjának etetésével gyógyította.

Hosszu ideig a beri-berit és scorbutot előidéző étrend között nem ismerték a különbséget

a csukamájolaj vitaminhatásu anyagát is egységesnek gondolták. Vizsgálatok során megállapították, hogy a csukamájolaj és vaj egyformán hatott a növekedésre, ellenben a csukamájolaj kétszázszorta több ugynevezett rachitis ellenes anyagot tartalmazott, mint a vaj. Ebből arra lehetett következtetni, hogy más és más vitamin hiány okozza a kórképet.

Kémiai vizsgálatok kimutatták, hogy két különálló anyagról van szó. Hogy a zürzavar ne fokozódjék, jellemző adatok hiányában az ABC egymásután következő betűivel jelölték azokat. Ennek alapján nevezzük meg ma is a vitaminokat, pl.: A, B, C, D.

A vitamin.

1909-ben Stepp megfigyelte, hogy az eddig ismert táplálkozási tényezők, fehérje, zsír, szénhidrát és ásványi anyagok nem elégségesek az állati szervezet felépítésére és fenntartására, ha az említett táplálékokból az alkoholban és aetherben oldható részeket eltávolítjuk.

1906-ban Falta és Noggerath megfigyelték, hogy egy még ismeretlen anyagnak a táplálékból való hiánya kötőszöveti gyulladást okoz.

Pillat szerint egy régi kínai könyv /620-907/ porrátorzt májat ajánl szembetegségek kezelésére. 1896-ban Japánban megállapították, hogy azok, akik a tengerparttól messze, az ország belsejében növényi táplálékon éltek, szembetegségben szenvedtek, míg a halakkal táplálkozó tengerparti lakosságnál ez nem volt észlelhető.

A világháboruban Dániában történt hasonló eset. Ez az ország a háborús, szűkös viszonyokat kihasználva vaját szállított a környező államokba. Hogy minél többet vihessen ki, a tejet tökéletesen lefölözte. Néhány hónap múlva súlyos

szembetegség ütötte fel a fejét: a szem szaruhártyája kiszáradt, elhomályosodott, végül az illető megvakult. Mikor a baj okát felismerték és a vaj kivitelét megszüntették, a szem megbetegedések lecsökkentek. Bécsben is hasonlóképpen nagy járvány lépett fel, főleg a férfiaknál a világháború alatt.

Drummond és Rosenheim vették észre, hogy azok az anyagok, melyek ezt a szembetegséget gyógyítják, arsentrichloriddal kék színeződést adnak. E színeződés mértéke arányban áll a gyógyító hatással, illetve az A vitamin mennyiségével. Később derült csak ki, hogy az említett színreakció az A vitaminra nem jellemző, mivel az arsentrichloriddal a karotinok is hasonlóan viselkednek.

Carr és Price stibiumtrichloridot alkalmaztak az A vitamin kimutatására reagensül, mert ennek erősebb volt a színerő hatása.

1929-ig az A vitaminról tudták, hogy zsírban oldható, oxydáló behatásokkal szemben érzékeny, adja a Carr-Price reakciót, valamint, hogy a csukamájolaj el nem szappanosítható részében megtalálható.

1919-ben közölte Steenbock, hogy kristályos karotinnal A vitaminhatást lehet elérni. Drummond és Rosenheim ezt szintén megpróbálták, de kísérletük sikertelen maradt.

1928-ban Euler és Karrer, amint Steenbock, úgy ők is megállapították, hogy a tiszta kristályos karotin A vitamin hatással bír.

Kuhn háromféleképpen tisztította a karotint:

1./ A karotint egy adsorbens segítségével adsorbeálta, majd erről újra leválasztotta.

2./ A karotinnak előállította a jodid származékát, s ebből újra előállította magát a karotint.

3./ A karotint 90 %-ban oxydálta és a megmaradó 10 %-ot használta fel.

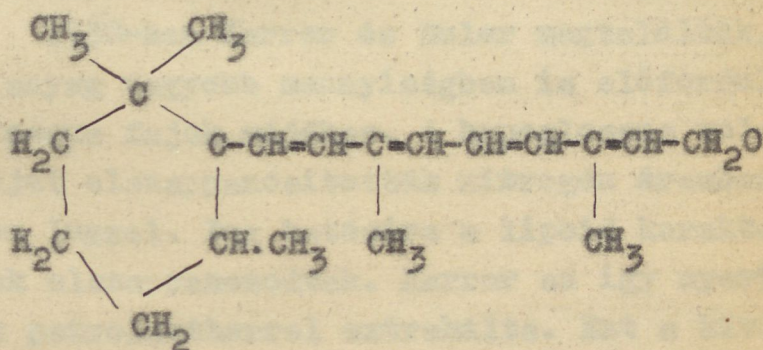
Azt látta, hogy bármely eljárással tisztított karotinnak A vitamin hatása van.

1930-ban Moore a patkányok egy részével igen bőségesen etetett karotint, a másik részét pedig rendesen etette. Bizonyos idő után megvizsgálta a kísérleti állatok máját és azt tapasztalta, hogy a karotinnal etetett állatok májában

sokkal több az A vitamin, mint a kontroll-állatokban. Megállapította, hogy a májban a karotinból A vitamin képződik. Moore ezzel mutatott rá a karotin provitamin szerepére. Kísérletei azt bizonyították, hogy az A vitamin és karotin között szerkezeti különbség van. Moore megállapította azt is, hogy élő szervezet tudja a karotint A vitaminná feldolgozni.

A vitamin képlete: $C_{20}H_{30}O$

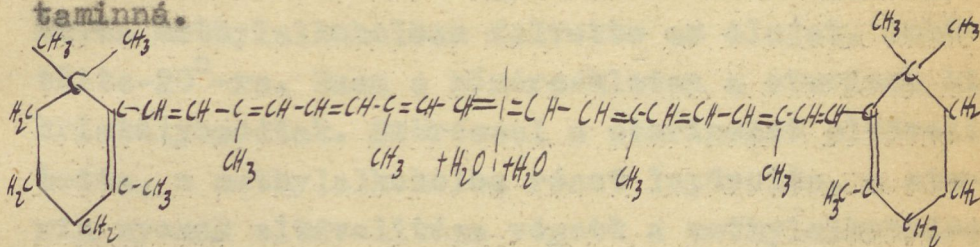
Szerkezeti képlete:



A szerkezeti képletből megállapítható, hogy a molekula telítetlen. Innen ered nagy reakcióképesség és könnyű oxydálhatósága. A molekula egy ciklikus és egy alifatikus oldalláncból áll.

A provitaminban is ilyen gyűrűs szerkezet

van. A karotinok vízfelvétellel alakulnak át vitaminná.



Az A vitamin izolálásával először Drumond próbálkozott meg. Kiindult a csukamájolajból. Ebben azonban kevés A vitamin lévén, más anyagot kerestek.

1930-ban Karrer és Euler megtalálták, hogy ez az anyag nagyobb mennyiségben is előfordul a hypoglossus fajok májában. A hypoglossus vulgaris máját elszappanosították nitrogén áramban alkoholos luggal. Így hatására a lipoid karakterű anyagok elszappanosodtak. Karrer az így nyert anyagot petrolaetherrel extrahálta. Ezt a kivonatot, mely az elszappanosíthatatlan alkotórészeket tartalmazta, vakuumban bepárologtatta. Visszamaradt egy barna színű, kenőcs állományú anyag, mely rendkívül erős optikai sajátságot mutatott. Ebben a készítményben még igen sok sterin volt.

Karrer a sterinektől úgy tisztította meg, hogy kevés methyllalkoholban felvette az olajat, lehűtötte -20° -ra. Ezen a hőmérsékleten a sterinek kikristályosodtak. Szűrőssel a sterineket eltávolította, a methyllalkoholos részt lepárolta, a sterin nyomok eltávolítása végett a methyllalkoholos kezelést kétszer megismételte.

Az A vitamin izolálásánál nagy segítséget jelentett a Carr-Price reakció. Az A vitamin outimontrichloriddal kék színt ad, melynek intenzitását standard színhez hasonlítjuk és ebből következtetünk a vizsgálandó anyag A vitamin tartalmára. A karotinok is adják ezt a reakciót, azonban az absorpció más spektrál területen jelenik meg. A karotinok reakciója antimontrichloriddal megszüntethető, ha 0.5 % guajacolt teszünk a vizsgálandó anyaghoz.-

A Carr-Price-féle Kolorimetriás módszer kivitelére Loviboond tintometer alkalmazható. Az 1932-es kiadású angol gyógyszerkönyv a következőképen írja elő.

A Loviboond tintometer fényforrásául 220 volton 40 wattos Osram-Nitra tejüveglámpát

ir elő. Fényét nem közvetlenül használják, hanem mögéje állított fehér tejüveg fényét használják.

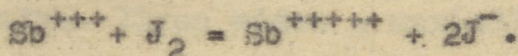
2 gr A vitamin tartalmu olajat követtában lemérünk és DAB VI-os chloroformmal 10 ccm-re higitjuk. Ebből az oldatból 1 ccm-es pipettával 0.2 ccm-t a Loviboud tintometer 10 ccm-es vastag követájába engedünk, melybe előzőleg 2 ccm antimonchlorid reagenst tettünk. A végpálca segítségével összekeverjük és a kék szineződés maximumát figyelve leolvassuk a szineződést. Négy-öt meghatározást végzünk és a középértéket vesszük.

Az antimonchlorid-oldat készítésénél vigyázni kell, hogy a chloroform viz és alkoholfmentes legyen. Az angol gyógyszerkönyv 21-23 %-os antimonchlorid-oldatot ir elő, mint telítettet.

Tisztítás céljából a DAB.VI-os chloroformot kétszer-háromszor alaposan kirázzuk ugyanannyi térfogatu vízzel, a vízben oldható szennyezések kioldására, melyek a chloroform előállításánál kerülhetnek bele, vagy a chloroform állása, oxydatiója közben keletkező sósav eltávolítására. Majd a vizet eltávolitjuk és a chloroformot azután frissen kiizzitott natriumsulfattal összeráz-

va víztelenítjük. A natriumsulfat a vizet kristályviz alakjában köti meg. A chloroformot lehetőleg fénymentes helyen ledesztilláljuk.

Az antimonchloridot oldás előtt a fentemlitett chloroformmal leöblítjük, vakuum segítségével a chloroform nyomokat eltávolítjuk, végül kénsav fölött megszáritjuk. Az így megtisztított antimonchloridból chloroformmal 20° C hőmérsékleten telített oldatot készítünk. 20° C hőmérsékleten a chloroform 21-23 súlyszázaléknyi antimontrichloridot visz oldatba. Az oldat %-os tartalmát jodometrikusan határozzuk meg. Elemi jód a stibiumtrichloridot öt vegyértékű Sb V.-á oxydálja. Az oxydációt n/10 jódoformmal végezzük és addig adagoljuk, míg a stibiumtrichlorid Sb^{III} alkatrésze teljesen átalakul Sb^V-á. A titraló folyadék fölös cseppje oxydálható Sb^{III} hiányában megmered, illetve az indokatorul használt keményítőoldattal élénk kék színű vegyületet képez.



Az antimontrichlorid chloroformos oldatából 1 ccm-t 20 ccm vízben és 2 gr kaliumnatriumtartaricumból, 2 gr natriumbicarbonicumból készült oldattal

elegyítjük. A Seignette só hozzáadása megszünteti a stibiumtrichlorid hydrolysisét. Vizzel ugyanis a stibiumtrichlorid reagál, fehér stibiumoxychlorid csapadék alakjában levál, mely Seignette sóban feloldódik, mint antimonnyltartarat. $\text{SbCl}_3 + \text{HOH} = \text{SbOCl} + 2 \text{HCl}$ $\left[\text{OOK} / \text{CHO} / 2 \cdot \text{COONa} + \text{SbOCl} = \text{COOK} / \text{CHOH} / 2 \cdot \text{COOSbO} + \text{NaCl} \right]$

Az antimontrichlorid hydrolysisénél felszabaduló sósav közömbösítésére natriumhydrocarbonatot adunk az oldathoz gyenge lugossáig, mert savanyu oldatban a Sb^{III} -nak Sb^{V} -é való oxydációja reverzibilis. n/lo jóoldattal titráljuk, mindaddig, míg az oldat már tovább nem változik, keményítő oldat indikátor jelenlétében. / 1 ccm n/lo jóoldat megfelel 0.01141 gr antimontrichloridnak/. Az antimontrichlorid reagenst jól záró barna üveg dugós üvegbe kell eltartani.- Leolvasáshoz két személy szükséges. Az egyik a kuvettában összerázza a reagenseket, a másik személy végzi a leolvasást 5 és 10 perc múlva. Ilyen módon a maximális kék érték leolvasható.

Kolorimetricus mérés másik módszere szintén a Carr-Price reakción alapul. Ekkelen és Emmerle beható spectrograficus kísérletek alapján megállapították, hogy az antimonchloridos reakciónál

fellépő absorptios sav a 610-620 és 572-583 hullámhosszuságba esik és csak a 610-620 specifikus az A vitaminra. Ezen sósavnak megfelelő absorpció a Zeiss-Pulfrich photométerrel az S_{61} -es szűrő alkalmazásával látható.

A leolvasásnak itt is, mint a tintometeres mérésnél, gyorsan kell történnie, 5-10 másodpercen belül.

10 mm rétegvastagságú küvettába 2.5 ccm vizet teszünk, egy másik ugyanakkora nagyságú küvettába lemérünk 0.25 ccm chloroformos A vitamin-oldatot. Majd egy bő nyílású pipettából 2.5 ccm antimontrichlorid reagenst adunk hozzá, miközben üvegbottal kevergetjük, s mivel 2-3 másodperc alatt a reakció lejátsszódik, azért az első leolvasást 5" múlva, a második leolvasást 10" múlva kell elvégezni.

Kedvessy vizsgálatai szerint a csukamájolaj élénk zöldes-sárga fluoreszcenciát mutat antimontrichloriddal, míg más zsíros olajok, avas csukamájolaj, enyhén kékes színben fluoreszkálnak. A csukamájolajnak ez a zöldes-sárga fluoreszcenciája azonban nemcsak ultraibolya besugárzás vagy

melegbhatására tűnik el, hanem oxydáció hatására is. A vitamint tartalmazó olajok, valamint friss vaj, sárgarépa cambiumgyűrűje is élénk zöldes-sárga színű fluoreszcenciát mutat, mely oxydáló anyagok hatására eltűnik. Ezen az alapon egy térfogat- meghatározó módszert dolgozott ki az A vitamin mennyiség- meghatározására. A pikrinsav az A vitamin fluoreszkáló tulajdonságát megszünteti. A pikrinsav ugyanis, mely 2, 4, 6 trinitrophenol, erősen savi tulajdonságu vegyület. A phenol- hydroxyl kifejezetten savanyu karakterét a benzolgyűrűhöz kapcsolt három nitrogyöktől nyeri, jellemző sajátsága, hogy igen sokféle szerves vegyülettel képez sószerű additios vegyületet u.n. pikratokat és nemcsak bazikus anyagokkal, hanem pl.:gyűrűs szénhydrogénekkel is, továbbá magával az A vitaminnal is. E tulajdonsága felhasználható

az A vitamin mennyileges meghatározására.

2 gr csukamájolajat porcellántálban 10 ccm chloroformban oldott, quarc lámpa alatt állandó kevergetés közben 5 %-os alkoholos /90%/ pikrinsav oldatot addig csepegtetett hozzá, míg a fluoreszcencia megszűnt. Az elhasznált pikrinsav-oldat ccm-einek száma arányos az illető anyag A vitamin tartalmával.

Az a csukamájolaj megfelelő, amelynek 2 gr-ja legalább 1.2 ccm oldatot fogyaszt. Az A vitamin-tartalmat pedig úgy kapja meg egységekben, ha ismert töménységű A vitamin-készítménnyel hasonlítja össze.

Soljanikowa-Nikolskaja szerint az A vitamin kolorimetrikus meghatározásai nem elég pontosak.

Carr-Price-féle reagens és az A vitamin kölcsönös hatására keletkezett színeződés bizonytalan és subiectiv.

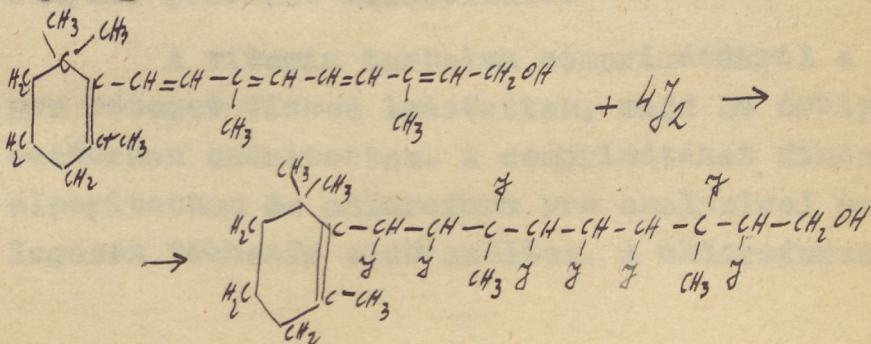
Soljanikowa-Nikolskaja vizsgálata szerint A vitaminnak $n/100$ jódoldattal való titrálásánál a jód absorptio arányos és függ az A vita-

min mennyiségétől. Több titrálás eredményeként megállapította, hogy az A vitamin molekulánként 8 atom jódot fogyaszt, mely látszólag oldalláncában 4 kettős kötést telít.

Az irodalomban ismeretes A vitamin meghatározások közül az utóbbi eljárást választottam az A vitamin mennyileges meghatározására.

E meghatározás lényege az, hogy A vitamin tartalmú készítményeket n/100 jódoldat főlöslégével reagáltatjuk. Állni hagyjuk, állás alatt a kettős kötések telítődnek s a telítésben részt nem vett jód mennyiségét n/100 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -al meghatározzuk keményítő indikátor jelenlétében.

A lemerjt n/100 jódoldat ccm és a titrálásra elfogyott n/100 natriumthiosulfat ccm-einek különbsége adja a telítésre elhasznált jód mennyiségét.



286 gr	A vitamin	8 lt n/J
35.75 gr	" "	1 lt n/J
3.575 gr	" "	1 lt n/100 J
0.0003575	" "	1 ccm n/100 = faktor

Mielőtt kísérleteimet megkezdtém volna, tájékoztató vizsgálatot végeztem arra vonatkozólag, hogy a különböző zsíros olajok chloroformos oldatait n/100 jóoldattal összerázva és 1/2 óráig állni hagyva jódot kötnek e meg? Mivel a zsíros olajok telítetlen zsírsavakat tartalmaznak és más organikus anyagokat, amelyek jódot fogyaszthatnak.

/:Kísérleteimet az I.sz.táblázatban foglaltam össze.:/

A feleslegben hozzáadott jódot n/100

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -al retitráltam. Azt találtam, hogy a vizsgált zsíros olajok jódot nem kötnek meg. Tehát

A vitamin meghatározására zsíros olajos közegben a n/100 jóoldat használható.

A vitamin tartalmu comprimátákról a dragee réteget vízben leáztattam, majd 24 óráig exsiccátorban szárítottam. A comprimátákat finoman elporítottam és chloroform pro analysivel mennyilegesen többször eldörzsöltem. A chloroformos ki-

vonatokat vízmentes natriumsulfatos vattán egy 100 ccm-es mérőlombikba szűrtem. A chloroformos kioldást mindaddig folytattam, míg az utolsó chloroformos részlet már szintelen volt. A mérőlombikban lévő chloroformos oldatot a körkörös jelig kiegészítettem. - A meghatározáshoz esetenként a szükséges mennyiséget ebből a vitaminos oldatból mértem.

A vitamin titrálásánál a következőképpen jártam el. A vitamin olajos, illetve chloroformos oldatához, melyet 100 ccm-es üveg dugós Erlenmeyer lombikba mértem, 10 ccm chloroformot adtam. Büret-tából hozzátsepegtettem apránként 10 ccm n/100 jódooldatot. A lombikot bedugva összeráztam az oldatot, majd félóraig állami hagytam. Azután a feleslegben levő jódot n/100 natriumthiosulfat oldattal retittráltam elszintelenedésig, keményítő indikátor jelenlétében. /:II.sz.táblázat./

I.sz. Táblázat.

Olasz neve	Bemért n/loo J oldat ccm-ben	Retitrá- lásra elfogyott n/loo J ccm-ben	Elhasz- nált n/loo J oldat ccm-ben
01 Raps e	10	10	Ø
01 Olivarum	10	10	Ø
01 Sesami	10	10	Ø
01 Ricini	10	10	Ø
01 Lini	10	10	Ø

II.sz.Táblázat.

Készítmény neve	Bemért A vitamin J.E.-ben	Titralás- hoz elfo- gyott n/100 J oldat ccm-ben	Középérték
Vitamin A olaj /Halivitan/ Richter	3,000	2.10 2.20 2.24	2.15
Vitaplex A olaj Chinoín	4,000	2.70 2.71 2.78	2.73
Wandervit A olaj /Virgin/ Wander	4,000	2.75 2.75 2.78	2.76
Vogán Olaj Merck	12,000	7.15 7.25 7.27	7.22
Vitamin A tabl. /Halivitan/ Richter	3,000	2.01 1.93 1.95	1.97
Vitaplex A tabl. Chinoín	4,000	2.58 2.61 2.65	2.61
Wandervit A tabl. /Virgin/ Wander	4,000	2.63 2.61 2.55	2.60

D vitamin.

A másik kémiailag ismert zsírban oldódó vitamin az antirachitikus, vagy D vitamin.

Hopkins vette először észre, hogy a rachitis hiánybetegség. Először elégtelen táplálkozásnak tulajdonította a betegséget, 1912-ben már a vitaminhiányban látta a rachitis okát.

1914-ben Funk is megerősítette Hopkins állításait.

1918-ban Mellanby kutyaon mesterséges rachitist idézett elő. Fiatal kutyaakat lefölözött tejjel, kevés élesztővel, lenolajjal, narancslével és megfelelő mennyiségű sókkal etetett, s azt tapasztalta, hogy az ilyen táplálékon tartott kutya hat héten belül rachitist kapnak. Mellanby kísérleteiből azt is megállapította, hogy milyen anyagokban található meg az antirachitikus faktor.

Vizsgálataiból kitűnt, hogy a teljes tejben és a csukamájolajban van meg. Mellanby először azt gondolta, hogy az A vitamin hiánya idézi elő

a rachitist.

Mc Collumb és Sherman egymástól függetlenül megállapították, hogy az A vitamin nem egyenlő az antirachitikus faktorral, mert a csukamájolajjal egyenlő vajmennyiséggel nem lehet a rachitist meggyógyítani. Viszont A avitaminosisban szenvedő állatokat ki lehet gyógyítani vajjal. Azonkívül megállapították azt is, hogy az antirachitikus tényező nem hőérzékeny, míg az A vitamin hőérzékeny.

Collumb nevezte el az antirachitikus faktort D vitaminnak.

Collumb állatkísérletekkel bebizonyította, hogy a kísérleti patkányok csak akkor kapnak rachitist, ha azokat D vitaminmentes tápanyagokkal etetjük és azokat sötétben tartjuk. Ha ugyanis a napfény sugarainak kitéve tartjuk a ketrecek és D vitaminmentes táplálékot kapnak a patkányok, akkor nem kapnak rachitist.

Rachitis keletkezésére két elmélet volt ismeretes, míg 1919-ben Haldschinsky tudományosan meg nem okolta keletkezésének okát. Ki tudta mutatni, hogy az ultraibolya spectrumnak és abból

is egy résznek van meg a speciális rachitist gyógyító hatása. Noha ennek bizonyítására sok érvet tudott felhozni, ellentmondott elméletének az a megfigyelés, hogy a sarki zónában, még a hosszú téli hónapok alatt is rachitis nagyon szórványosan vagy egyáltalán nem lépett fel. Tudták, hogy ott a halolaj lényeges táplálék és ezzel tisztázódott, hogy ebben kell lenni a rachitis elleni tényezőnek. Észlelték azt is, hogy ha a rachitisben szenvedő állatokat egyszerűen napfénnel megvilágított ketrecbe teszik, akkor meggyógyulnak anélkül, hogy a táplálék összetételében változtattak volna. Mivel nem teljesen tiszta ketrecet tettek ki napfény hatásának, a piszkos ürülékkel telt ketrecben keletkezett valami napfény hatására. Ezért teljesen tiszta ketrecet világítottak meg. Ekkor a patkányok kivétel nélkül megkapták a rachitist.

A kísérletből kiderült, hogy inaktív tápanyagok, ultraibolyasugárzás hatására aktáivakká válnak.

Steenboock vizsgálta meg, hogy melyek azok

az anyagok, melyek ultraibolya sugarak hatására antirachitikusan hatnak. Ez az anyag nemcsak tápanyagokban, hanem az ember és állati szervezet bőralatti rétegében is megtalálható, mely azután természetes, vagy mesterséges ultraibolya sugarak hatására aktiválódik és így magyarázható, hogy a rachitisben szenvedő állatok ily kezelés mellett meggyógyulnak.

Tehát a bőr alatt lévő anyag bizonyos kémiai átalakuláson megy át, ez az új anyag pedig a D vitamin.

Feltűnt, hogy azok a tápanyagok, melyek dúsak sterinben, igen erős D vitamin hatást mutatnak.

Felmerült a kérdés, hogy az ergosterni egyenlő-e a D vitaminnal vagy csupán szennyezés, mely a D vitaminhoz van kötve és hogy az okozza-e a vitaminhatást?

Windans megállapította, hogy a provitamin nem egyenlő a cholesterinnel, hanem a cholesterinben igen kis mennyiségben van jelen.

Windans megvizsgálta az összes sterinféleségek szinképet. Az ergosterint besugározva kit

tűnt, hogy rendkívül antirachitikus hatása, 6000-szer erősebb, mint a cholesterolin. Ebből bebizonyosodott, hogy az ergosterin a D vitamin provitaminja.

A D vitamin izolálása Windans nevéhez fűződik. A tiszta ergosterint 1-2 %-os benzolos oldatban besugározta. A gyárakban a besugárzást úgy végzik el, hogy quarchengerbe helyezik az oldatot. Ez a henger lassu forgásban van és kívülről ultraibolya fénnnyel van megvilágítva. Az ultraibolya fényt magnézium elektródok között létesített ivfénnnyel állítják elő. A műveletet a levegő gondos kizárásával végzik. 25 gr ergosterin besugárzása 12 óráig tart. Megfelelő hűtéssel 12 órás megvilágítás után elérhető, hogy az ergosterinnek 60 %-a átalakul D vitaminná. A változatlan ergosterint úgy távolítják el, hogy a benzolos oldatot vakuumban 40°C-on lepárolják. Az olajszerű anyagot methyllalkoholban oldják, -12°C-ra lehűtik és több órán át állani hagyják. Ekkor az ergosterin legnagyobb része kiválik, amit szűréssel eltávolítanak. A szűretben még mindig van kevés ergosterin, amit úgy távolítanak el, hogy digitoninnal adolciós vegyületet létesítenek és újra bepárolják.

A szárazra párolt maradékot petrolaetherrel kivén-
ják, amikor a besugárzott termék kioldódik, míg a
digitoninnal képzett addíciós vegyület és a feles-
legben lévő digitonin visszamarad.

A tachysterin leválasztása végett a pet-
rolaetheres oldatot bepárolják, ~~citracons~~^{citracony}avanhydrid-
del keverik és peroxydmentes petrolaetherben old-
ják, majd 5 percig leforrasztott edényben állani
hagyják. Ezalatt a citraconsavanhydrid addíciós
vegyületet képez. A petrolaetheres oldatot azután
teljesen lepárolják és a maradékot alkoholos vizes
káliumhydroxyddal kezelik. A vizes elegyet petrol-
aetherrel kirázzák, amikor a tachysterin vissza-
marad a vizes oldatban, a petrolaether pedig ki-
oldja a többi átalakulási terméket.

A gyógyítás céljára szolgáló készítmény-
ből főleg a mérgező hatású toxysterint kell gondo-
san eltávolítani. E végett a petrolaetheres olda-
tot bepárolják és methyllalkoholos acetonos oldat-
ból kikristályosítják a D₂ vitamint.

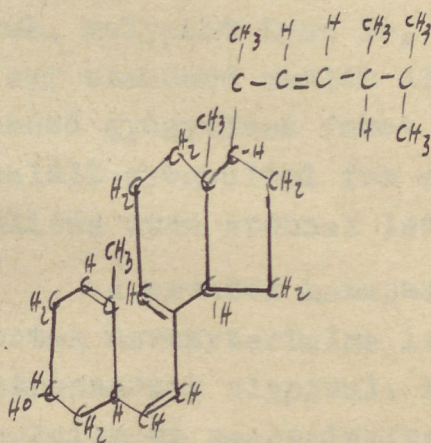
Az egységes preparatum hosszú prizmákban
kristályosodik. Olvadáspontja 115-117°C között
van. Acetonban, chloroformban, petrolaetherben, al-

koholban és zsíros olajokban igen jól oldódik.

Egy cc, aceton 0.07 gr-et képes feloldani.
Optikai forgatóképessége erősen pozitív, alkoholban $[\alpha]_D = 103^\circ$.

Az absorptió spectrum jellegzetes maximuma 265 levegőn jól eltartható. Vakuumban 12 órán belül 115°C -on sem változik meg.

Szerkezeti képlete:



D vitamin mennyileges meghatározására az angolokort gyógyító hatását vették alapul.

A Line-Test alatt értjük azt, hogy 20 napon át D vitaminmentes eledellel táplált és rachitisesse tett patkányok a vizsgálandó anyaggal több napon

keresztül kezelik. Ilyen állatok csontjait ezüst-nitrátoldatba helyezik, majd fény hatásának teszik ki. A szerint, hogy a vizsgálandó anyag mennyi vitamint tartalmazott, különböző gyógyulási fokot mutat, mely a csontoknak ezüstnitráttal való kezelésén és a több vagy kevesebb lerakodott calcium csikjának vastagságán alapul. A gyógyulás közben lerakodott mész ugyanis fekete sávokban látszik és tisztán felismerhetők a különböző gyógyulási fokok, melyeket Dyer 1+, 2+, 3+ stb. módon jelölt és egy standard skálát állított fel, mely hat különböző gyógyulási fokot tartalmazott, s ezáltal a talált gyógyulási fok a skálával való összehasonlítás után azonnal leolvasható.

A csontok hamujának meghatározása vagy a csontok ásványtartalma is szolgál D vitamin meghatározásának alapjául. A hamuban meghatározható a calcium és magnésiumfosfatok mennyisége. A hamu tömege függ az élelmezés D vitamintartalmától.

Az eredményt úgy lehet megkapni, hogy a hamutartalmat osztják a szerves szárazanyagtartalommal. Sorozatos meghatározásnál nagy hátránya az eljárásnak, hogy hosszú időt vesz igénybe.

Vegyi úton spektrografikus és kolorimetrikus módszer szolgál a D vitamin mennyileges meghatározására.

Fuchs és Beck végeztek spektrografikus meghatározásokat a 265μ -nál történő absorptió maximum kihasználásával.

Koloremitrikus meghatározások közül Brockmann és Chen szerint tiszta D_2 és D_3 vitamin-oldat antimonchloriddal narancssárga színeződést ad, melynek karakterisztikus absorptios sávja 500 nál van Hellige-féle koloriméter alkalmazásával.

A D vitamin sesamolajos oldatánál a sesamint izolálni kell. Ez 90 %-os ecetsavval a sesamolaj háromszori kirázásával történik.

A tiszta sesamin absorptios spectrumba intenzív absorptios sávokat mutat, melynek maximuma 286μ -nál van. Ecetsavas kirázásnál a D vitamin mennyisége csökken, ezért olyan olajok, melyek 0.3 mgr-nál kevesebbet tartalmaznak 1 gr olajban oldva, spektrografikus meghatározásra nem alkalmasak.

Olivaolajos oldatnál a D vitamint az olaj elszappanosíthatatlan részével izolálják és az ultraviola absorptios spektrum segítségével mennyilegesen meghatározható.

A D vitamint tartalmazó készítmények meghatározására szolgáló eljárások keresése közben Halden egy kalorimetrikus eljárást dolgozott ki.

Eljárása összehasonlító oldat segítségével történik. Szükséges hozzá 1 %-os pyrogallol abs alkoholos oldata, és 10 %-os aluminiumchlorid oldat.

Az összehasonlító oldat pedig a következőképpen készül: sorban oldódó fuchsinból 0.01 gr-ot 100 ccm dest. vízben oldunk, renolfeketéből pedig 0.09 gr-ot 1000 ccm dest.vízben. Az előbbi oldatból 1 ccm-t, az utóbbiból pedig 2 ccm-t összekeverünk és dest. vízzel 20 ccm-re egészítjük ki.

A vizsgálandó vitamin oldatból veszünk 2 ccm-t és ehhez adunk 5 csepp pyrogallol oldatot. A keveréket vízfürdőn néhány tized ccm-re bepároljuk. Majd 3 csepp aluminiumchlorid oldatot adva hozzá, tovább melegítjük vízfürdőn, miközben ibolyavörös szineződés lép fel. E színes anyag 5 ccm alkoholban oldva kaloriméterben a D vitamin mennyisége kiértékelhető.

A D vitamin mennyisége gyorsan és arány-

lag legpontosabban mérhető Pulfrich-féle photometerrel. Itt ugyenisa D vitamint oliva olajban, vagy sesamolajban oldjuk, ez kerül az egyik küvetába, a másikban pedig az összehasonlító oldat van, tehát a tiszta olaj.

A Pulfrich-féle lépcsősphotométerrel való mérés a fényabsorptión alapszik.

A fényforrásból a fénysugár két tükör segítségével két uton egymással párhuzamosan halad az okulár felé, miközben átmegy egy bikonvex lencsén, egy opálüvegen, a mérendő folyadékoszlopon, diafragmán, egy plankonvex lencsén, végül egy prizma segítségével a két sugárnyaláb egy oculár lencse szűrőjének síkjában egyesül.

E berendezés által a két sugár útjába állított színes oldatok színintenzitását össze tudjuk hasonlítani, ha az egyik oldalon standard oldatot, vagy szintelen oldószert teszünk./I.ábra./

A vizsgálandó folyadék befogadására különböző nagyságu küvetták használatosak.

Ha a készülék mindkét mérődobját 100-ra állítjuk, vagyis, ha mindkét diafragma teljesen

nyitva van, akkor az okulárban két egyformán megvilágított látóteret látunk, melyet éles választóvonal oszt ketté. Ha most az egyik kuvettatartóba a vizsgálandó oldatot, a másikba tiszta oldószert tartalmazó kuvettát teszünk, az absorbeáló folyadék oldalán a látótérfél sötétebb lesz, /subjective a másik oldalon észleljük a fénysugarak kereszteződése miatt,/ mégpedig olyan mértékben, mely érték nagysága a színes oldat absorbeálásának megfelel. Most a tiszta oldószer felől lévő csavart úgy mozdítjuk el, hogy a két látótér megvilágítása egyenlő legyen. Az ezen leolvasott szám százalékot jelent, egyben a tiszta oldószerre vonatkoztatott abszolút értéket.

A helyes mérés alapfeltétele az okulárlencse előtt közvetlenül lévő színszűrő helyes megválasztása. A színszűrők különböző színárnyalatnak, s ennek megfelelően különböző hullámhosszuságu fényt absorbeálnak, illetve nyelnek el. Az a színszűrő választandó, mely olyan sugarakat enged át, amelyet a vizsgálandó folyadék erősen absorbeál. Vagyis az a filter legalkalmasabb, amelyiknek színéből a vizsgált folyadék legkevesebbet enged át.

Ha a koordinata rendszer abszcissájára felrajzolom különböző koncentrációju oldatok adatait, ordinátára pedig a mérődobon leolvasott értékeket, akkor egy görbét kapok, ha összekötöm a mérés eredményeként kapott pontokat. Ha azonban a dobon leolvasott értékek negatív logaritmusát a koordinata rendszerre viszem, akkor egyenest fogok kapni.

Ismeretlen oldattal való mérést a megfelelő szűrő kiválasztása vezet be.

E célból különböző higitásokat készítünk az oldatból, s megkeressük azt a küvettát, melyet alkalmazva a dobon leolvasott érték 10-70 között van, mert ezen értékek mellett biztos a meghatározás.

Ezután az egyik küvettába tiszta oldószert, a másik küvettába a legtöményebb oldatot tesszük és elvégezzük a mérést mind a nyolc szűrővel, azután a többi higitással. Meghatározzuk az extinktiós coefficienseket s az egy szűrővel kapott oldatokat koordinata rendszeren felrajzoljuk. Amely szűrővel kapott adatok az egyenes mentén fekszenek, az a szűrő absorbeál legkevésébbet az

illető oldat által absorbeált fényből, tehát a további meghatározást azzal végezzük.

Az extinktiós coefficientenseket megkapjuk, ha az áteresztő képesség D értékeként kapott számot logaritmáljuk, -1 -el megszorozzuk és végül a mérésnél használt rétegvastagsággal elosztjuk.

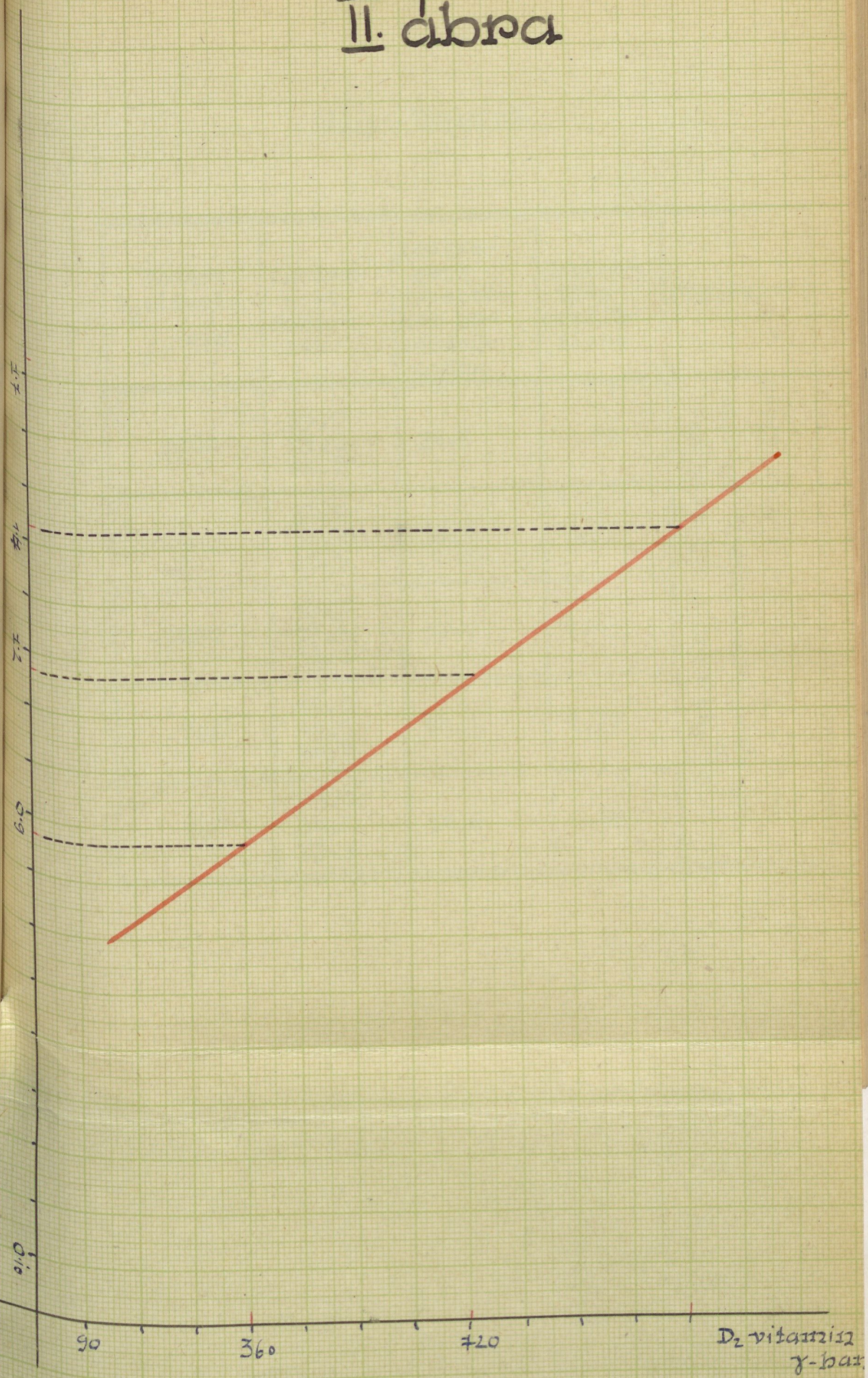
II. ábra. III. sz. táblázat.

D vitamin-tartalmú készítmények meghatározásánál olajos oldat esetén magát az oldatot alkalmaztam, kontrollként pedig az oldószert.

Tablettákat Ritsert eljárása szerint izoláltam úgy, hogy 20 tablettát elporítva 120 ccm 50 %-os elkohollal, melyet előzőleg 8 gr káliumhydroxyddal meglugosítottam, elszappanosítottam. 100 ccm dest. vizet adtam hozzá, háromszor kiráztam, egyenként 200 ccm aetherrel. Az aetheres kivonatokat betöményítve a maradékot 100 ccm petrolaetherben oldottam, majd aluminiumhydroxydot tartalmazó csövön átszivattam. 0.25 % metanolt tartalmazó benzin-benzol keverékkel kiráztam, majd bepárolva a maradékot olivajolajban oldottam.

/IV. sz. táblázat./

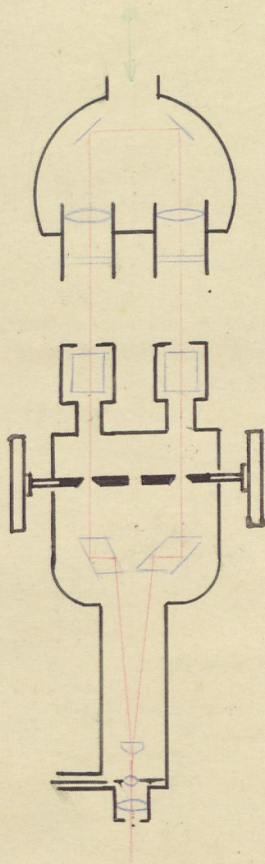
II. ¹libra



III.sz. Táblázat.

Bemért D ₂ vitamin -ban	Leolva- sott dobér- ték	Leolva- sott dobérté- kek kö- zépará- nyosa	Extinc- tios coeffi- ciens	Megjegyzés
1800	25.0 25.0 24.0	24.6	2.03	S ₆₁ -es szűrőt alkalmaztam, 30 mm rétegvastagságú követő- val. - D ₂ vitamin olívaolajban oldva
1440	30.0 31.0 30.5	30.5	1.73	
1080	37.5 37.5 38.0	37.7	1.43	
720	45.0 43.5 44.5	44.3	1.17	
360	55.0 54.0 55.5	54.8	0.87	

I.sz. ábra.



IV.sz. Táblázat.

Készítmény neve	Bemért mennyiség ♠-ban és I.T.-ben	Extinc- tios coeffi- ciens	Talált mennyi- ség	+ -%	Megjegy- zés
Vitaplex D olaj /Devitol/ Chinoïn	360 ♠ 15000 E	0.83	315 ♠ 13111 E	-12.50	1 ccm=360 ♠ =15000 E
Vitamin D olaj /Erg.Irrad/Richter	360 ♠ 15000 E	0.84	325 ♠ 13542 E	-9.73	1 ccm=360 ♠ =15000 E
Vigantol olaj Merck	300 ♠ 12000 E	0.80	720 ♠ 10800 E	-10.0	1 ccm=300 ♠ =12000 E
Wandervit D olaj /Viosterin/ ² Wander	360 ♠ 15000 E	0.835	320 ♠ 13333 E	-11.12	1 ccm=360 ♠ =15000 E
Vitamin D tabl. /Erg.Irrad/Richter	720 ♠ 30000 E	1.03	573 ♠ 23873 E	-20.50	1 tabl=75 ♠ =3000 E
Vigantol tabl Merck	600 ♠ 28800 E	0.98	510 ♠ 24480 E	-20.0	1 tabl=60 ♠ =2400 E

B₁ vitamin.

A vitaminok másik nagy csoportja a vízben oldódó vitaminok. Ide tartozik a B₁ és C vitamin.

A tiszta kristályos vitamin B₁-et a kémikusok aneurinnak nevezik. Nevét onnan nyerte, hogy a beriberinél különösen jellemző súlyos idegbénulást védi ki.

A B₁ vitamin a vitaminfogalom kielakulása szempontjából igen jelentős anyag volt s vele kapcsolatban igen fontos észlelések történtek.

1882-ben egy japán katonsorvos igen fontos megbízatást kapott. Ebben az időben Ázsiában nagymértékben pusztított a beri-beri s a betegség fellépett a japán haditengerészetnél is. A japán hadügyi kormányzat Takaki japán katonaorvost bízta meg a betegség okának kiderítésére. Takaki a betegség okát abban látta, hogy a tengerészek egyoldaluan csak hántolt rizsszel táplálkoztak. Javaslatára rizs helyett kenyeret, húst, gyümölcsöt adtak s a beri-beri egyszerre megszűnt.

Később Eykmann nevű holland orvos is fon

tos észlelést tett.

1895-96-ban statisztikai vizsgálatokat végzett a jávai börtönökben. Vizsgálatai alapján kiderült, hogy azokban a börtönökben pusztít a beri-beri, ahol hántolt rizzzel táplálják a börtönlakókat. Viszont megállapította azt is, hogy a hántolatlan rízzsel való táplálkozás esetén a beri-beri egyáltalán nem lép fel.- Ebből Eykmann arra következtetett, hogy a hántolt rizsnek a fogyasztása okozza a beri-berit. Közlése igen nagy ellenzésre talált, nem hitték azt, hogy a rizskorpának a hiánya okozza a beri-berit. Az akkori fiziológiai felfogás szerint nem okozhat betegséget olyan anyag, melyet nem vesz fel a szervezet.

Eykmannt a véletlen vezette igazának a bebizonyítására. Az egyik börtönnél a baromfiak is beri-beribe estek. Ebből Eykmann arra következtetett, hogy a csirkék alkalmas kísérleti állatok lesznek. Kísérletei során tényleg kiderült, hogy a rizskorpával etetett, beri-beriben szenvedő baromfiak meggyógyultak. Ugyanezt az eredményt kapta rizskorpa vizes kivonatával.

Magyarázata azonban téves volt.

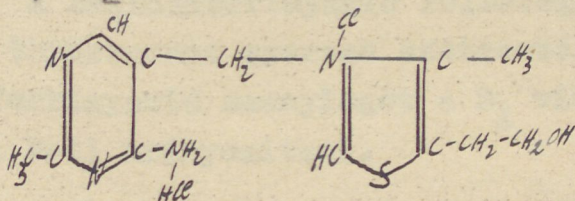
Azt állította, hogy a hántolt rizs keményítőtartalma relative sokkal nagyobb, mint a hántolatlan rizsé, mert a meg külső része nem tartalmaz keményítőt. A kísérletből arra következtetett, hogy az állatok azért betegszenek meg, mert túl sok keményítőhöz jut a szervezet s a feleslegből toxinok, mérges hatású anyagok keletkeznek. Szerinte a rizskorpában egy vízben oldódó toxint leköötő anyag van, mely hántolatlan rizsszel táplált állatoknál megakadályozza a beri-beri fellépését.

Helyes magyarázatát egy holland kutató Grins adta meg. Grins mondta ki először azt, hogy a rizskorpában egy nélkülözhetetlen tápanyag komponens van, mely az idegállomány normális anyagcseréjéhez szükséges.

Ezen az alapon indultak meg a kísérletek. A cél az volt, hogy egészen tiszta állapotban próbálják a rizskorpából a rendkívül aktív ható anyagot előállítani.

Funk mutatta fel az első eredményt 1911-ben. A rizskorpából egy olyan kristályos anyagot izolált, amelynek meglehetősen erős vitamin hatása volt, vagyis a beri-beriben szenvedő kísérleti állatokat meggyógyította.

A Funk-féle készítményből azonban meglehetősen nagy mennyiséget kellett adagolni. A készítmény bázisos természetű nitrogént tartalmazott, sósavval chlorhydrátot képezett. Miután nyilvánvaló volt, hogy a Funk-féle készítmény nem tiszta, az izolálási kísérletek tovább folytak. Tizenöt évig tartott, míg sikerült egy rendkívül aktív készítményt előállítani. Két holland kutatónak, Jansennek és Donathnak sikerült tisztán előállítani 1926-ban. Az anyag összetétele $C_{12}H_{18}ON_4SCL_2$ -nek bizonyult.



Kémiailag egy thyazol és egy pyrimidin kondenzációjából keletkezik. /9 γ -nyi dósis kigyógyította a beri-beriben szenvedő galambot, illetve 9 γ -nyi mennyiség volt szükséges ahhoz, hogy a galamb elkerülje a betegséget./

Kémiai meghatározások közül legspecifikusabb a B.Jansen által leírt W.Karrer és Kubli által a gyakorlatba is bevezetett thyothrom módszer.

Ez az eljárás a B_1 vitamin oxydációs termékének a kék színben fluoreszkáló thyochromnak a mérésén alapszik.

Barger észrevette, hogy a B_1 vitamin oxydáció által káliumferricyaniddal lúgos oldatban kék színben fluoreszkál, melyet Kuhn thyochromnak nevezett el. Jansen használta fel először ennek a fluoreszkáló thyochromnak a B_1 vitaminból való keletkezését az aneurin mennyileges meghatározására.

A káliumferricyanid főlésslegben való jelenléte a thyochromot gyorsan szétrombolja, ezért a káliumferricyanid mennyiségét a B_1 vitamin mennyiségével kell arányosítani.

A thyochromnak az érzékenységet methyllalkohollal szállította le, mivel pedig a B_1 vitamin is érzékeny lúgokkal szemben, az oxydációnak vagy előbb, vagy ugyanakkor kell megtörténnie, mint a meglugosításnak. A fluoreszkáló thyochromot isobutylalkohollal rázta ki és a fluoreszcenciát mérte. Jansen a vizsgálatot a következőképpen végezte: üveg dugós lombikban 1-20 mgr aneurint 0.1 ccm vízben oldott. Hozzáadott 1 mgr B_1 vitaminnak megfelelően 0.01-0.1 ccm-t, 20 mgr-nak 0.1-0.2 ccm

0.1 %-os kaliumferricyanid oldatot adott, jól összerázta, majd 3 ccm 10%-os natriumhydroxyddal meglugosította és 1-2 perc múlva 13 ccm izobutanollal kirázta. Centrifugálás után a felső izobutanol rétegből 10 ccm-t fluorométerben megvizsgált.

A fluorométer standardizálására Jansen a chinin 0.3 mgr %-os n/10 kénsavas oldatát használta.

W Karrer és Kubli Jansen értékeit magasnak találták. Ők ezt más fluoreszkáló anyagra vették vissza, melynek fluoreszcenciája a photovellára hat és így az anyagnak nagyobb^a thyochrom illetve B₁ vitamin tartalma. Ezért megkísérelték, hogy a thyochrom izobutanol-oldat fluoreszcenciájának erősségét közvetlen megfigyeléssel és összehasonlítással mérjék ultraviola fényben.

Összehasonlítás céljából tiszta aneurin vizes oldatát használták. A módszer aránylag egyszerű és kevés időt kíván, azonban a kísérleti hibák $\pm 20\%$ között mozognak, ami a tökéletlen vagy tulságos oxydációból következik.

Willstaedt és Bárány a B₁ vitamin meghatározására 2,4-dichlorbenzoldiazoniumchloridot al-

kámaztak., mely a B₁ vitaminnal egy azofestéket képez, mely megsavanyítva aetherrel quantitative kirázható.

50-60 ccm vizsgálandó oldatot, mely kb. 40-100 aneurint tartalmaz, 1-2 ccm vitztelenített natriumcarbonatból készült oldattal kezeltek. Ehez az előre elkészített diazó oldatból 5 ccm-t adtak. Az időt stopperórával mérték. 20 másodperc múlva 1 ccm 25 %-os sósavval elegyítették és jól összerázták. Azután háromszor 10 ccm aetherrel kirázták. Az egyesített aetheres kivonatokat kétszer 20 ccm 3%-os káliumhydroxyddal kimosták. Azután $3 \frac{G}{3}$ üvegszűrőn átszűrték, mely 15-20 mm vastag vízmentes nátriumsulfát réteggel volt lefedve. A szűrletet vízfürdőn bepárolták, majd 15-20 ccm-re feltöltötték. A vizsgálatot Pulfrich-féle photométerrel végezték.

H Kinnersley és R Peters eljárása azon alapszik, hogy diazotált benzolsulfosavval az aneurin alkalikus oldatban vörös színeződést ad. Formaldehyd hozzáadásával a vörös színeződés stabilizálódik, amit standard oldattal összehasonlítanak. E módszer hibahatára $\pm 5 \%$.

A B_1 vitamint tartalmazó oldat 0.1-0.3 ccm-t, mely 10-20 γ aneurint és 30 % aethylalkoholt tartalmaz, 1.25 ccm alkalikus oldat és 0.5 ccm diazobenzolsulfosav keverékével összekeverjük, miközben az alkohol vörös színeződést ad. Két óra múlva a vörös színeződést kétszer 2 ccm butylalkohollal kirázták. A vizes oldat ekkor kb. 6.5 Ph-t mutatott. Az egyesített vizes oldatokat ugyanannyi térfogatú aethylalkohollal elegyítették és a vörös színeződést standard oldattal összehasonlították.

Slotta és Neizser szerinti aneurin mennyi-
leges meghatározása azon alapszik, hogy a B_1
vitamin alkalikus jóddal konstans molekulá-
ris viszonyban reagál, 1:6 arányban. Az aneurint
tartalmazó oldatot 10 ccm 0.01 n jóddal ele-
gyítették olvadó jégben. 2 n natriumhydroxydot cse-
pegtettek hozzá a jóddat elszíntelenedéséig, majd
jégszekrényben 2 óráig állni hagyták. Állás után
2 n kénsavval megsavanyítva a felszabaduló jódot
titrálták 0.05 n natriumthiosulfát oldattal. Ki-
számításnál úgy jártak el, hogy a jóddat és thyo-
sulfát oldat ccm-einek számát átszámították 0.05 n
oldatra. Kivonással megkapták az ismeretlen mennyi-
ségű aneurin által elhasznált 0.05 n jóddat ccm-

einek számát. A B_1 vitamin mennyiségét pedig az
 $X = \frac{337.3 \cdot \text{ccm J}}{120}$ egyenlet alapján kapták meg.

A felsorolt B_1 vitamin meghatározások közül a Slotta és Neizser módszere látszott a legkönnyebben keresztülvihetőnek és a legegyszerűbbnek. Ezért az aneurin mennyileges meghatározására az utóbbit választottam.

Meghatározást a következő módon hajtottam végre: analitikai mérlegen négy tizedesnyi pontossággal lemért 1.00 gr B_1 vitamint feloldottam 100 ccm-es mérőlombikban dest.vizzel. Félórán át 20°C -os vízfürdőn tartva dest.vizzel kiegészítettem a jelig. Az ily módon elkészített oldatból mértem ki esetenként a szükséges mennyiséget. Az üvegduós Erlenmeyer-lombikba megfelelő mennyiségű /0.001-0.01 gr mennyiségig n/05 jódoldatot, 0.0001 - 0.001 gr mennyiségig n/005 jódoldatot/ jódoldatot.

Majd olvadó jégen tartva meglugosítottam 2 n natriumhydroxyddal /kb 2 ccm/. A meglugosítást cseppenként végeztem a lombik körkörös mozgatása közben, mindaddig csepegtetve hozzá a lugot, míg a jód elszintelenedett és ezen felül még 3-4 cseppet. Ezután jégszekrényben elhelyezve két órán át

hagytam állni, mialatt az oxydáció tökéletesen végbement. Majd olvadó jégen tartva 2 n kénsavval megsavanyítottam s a feleslegben maradt és felszabaduló jódot ~~mmmm~~ n/05, illetve n/005 natriumthyosulfát oldattal titráltam a szalmasárga színig, azután 0.3 ccm keményítő oldatot adtam hozzá, mikor is a lila színű oldat elszíntelenedését könnyen észlelhettem. A jódoldat ccm-ének számából levontam az elfogyott natriumthyosulfát-oldat ccm-ek számát, így megkaptam a bemért B₁ vitamin által elhasznált jódoldat ccm-ek mennyiségét. Az aneurin mennyiségét pedig $X : 337.3 =$
 $= \text{elf. ccm Jod} : 120 \text{ egyenlet alapján számítottam ki. /V.sz.táblázat./}$

A Slotta és Neizser szerint megvizsgált gyógyszerkészítmények B₁ vitamin tartalmát a VI. sz.táblázatban foglaltam össze.

A tablettákat dest.vizben oldottam, quantitative átszűrtem s a szűrletet megvizsgáltam.

Az aneurin bázikus karakterű vegyület, bázikusságát a nitrogén atomoktól, főleg az amidogyöktől nyeri. Az aneurin gr molekulasúlynyi mennyisége egy molekula sósavat köt meg, ez a sósav nem veszíti el savi tulajdonságát, ezért natriumhydroxyd mérőoldattal meghatározható s a mérőoldat elhasznált tértfogásából következtetést vonhatunk az aneurin molekulájában lévő sósav mennyiségére, illetve - mivel az aneurin chlorhydrat számított mennyiségű sósavval van előállítva - magára az aneurin mennyiségére is.

Az aneurin chlorhydrátnak luggal való direkt titrálása nem adott quantitativ eredményeket, úgy az a gondolat merült fel, hogy nem lehetne-e a meghatározást oly képen módosítani, hogy a meghatározandó aneurint fölös, mégpedig n/100 natriumhydroxyddal reagáltatom.

A natronlug erős lug, tehát a lazán kötött savval könnyebben reagál, a reakciót meg lehet gyorsítani legalább 5 percig tartó forralással, az elegy lehűtése után az elhasználatlan lug mennyiségét n/100 sósavval mérhetjük.

Ehez hasonló térfogatos eljárásokat a Ph Hg IV. is alkalmaz az alkaloidák meghatározásánál is.

Az indikátor itt is lehetne, mint a Ph Hg IV.-ben methylvörös és methylenkék. A methylvörös savban piros, ligben sárga színű, az átcsapása narancs. Az átcsapás 4-6 Ph között van, ezért a meghatározásnál igen jól használható. A methylvörös átcsapási zónáját jobban érzékelhetővé tehetjük, ha egy kék festéket és pedig a methylenkéket használjuk kiegészítő szinkomponensnek. A methylenkék sem savi, sem lúgos Ph-nál nem veszíti el színét, a methylvörös vörös színével ibolyát, sárga színével pedig zöldet ad. Az átcsapási szín kék. Ez a kék szín jelenti tehát a titrálás végét.

A módszer quantitativ helyességének ellenőrzésére vizsgálatokat végeztem 0.1 %-os B₁ vitamin kiforralt vizes oldatával a következő módon.

Bemérttem 50 ccm-es Erlenmeyer lombikba mikrobürettával 0.1 %-os aneurin chlorhydrat oldatból 5,4,3,2,1 ccm-nyi mennyiségeket, hozzácsépegtettem bürettából fölös 20 ccm n/100 Na OH oldatot. A lúgos folyadékokat 5 percig aszbeszt drót háló fölött enyhén forraltam, a folyadék elegyek

lehűlése után 3 csepp methylvörös és 1 csepp methylenkék indikátor jelenlétében titráltam n/100 HCl-al kék színig.

$C_{12}H_{17}ON_4Cl$, HCl ——— Na OH

337.3 gr

1 lt n/NaOH

33.73 gr

1 lt n/10 NaOH

3.373 gr

1 lt n/100 NaOH

0.003373 gr

1 ccm n/100 NaOH =faktor

A titrálásnál kapott n/100 HCl mennyiségét levonom a fölös 20 ccm n/100 NaOH mennyiségéből.

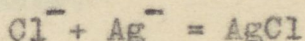
A különbség adja az aneurin molekulában lévő HCl közömbösítésére ténylegesen elhasznált n/100 NaOH mennyiségét, ha ezt megszorozzuk az aneurin chlorhydrát faktorával, megkapjuk a tiszta anyag mennyiségét mg-ban kifejezve. /VII. Táblázat./

Amint az táblázatból is látható, az aneurin neutralizációs meghatározása csak nagyobb mennyiségeknél ad jó eredményeket és pedig 20 mg-nál, 16 mg-nál. Itt kb. 5-8% a hibahatár. Kisebb mennyiségeknél a hiba fokozatosan emelkedik, úgy hogy 4 mg aneurinnál már 40 % lép fel.

A B_1 vitamin neutralizációs mérésénél a molekulához tártán kötött sósavat mérjük n/100 NaOH-

val. A Ph Hg IV.-ben az alkaloidákhoz kötött HCl-at az u.n. Than-féle identitási próbával lehet meghatározni, ahol számított mennyiségű alkaloidchlorhydrátot számított mennyiségű n/10 AgNO₃-al választjuk le s a szűrés után a szűrlet egyik felében Ag, a másik felében Cl ionra kémlelünk. S ha az egyik ion pozitív a szűrletben, úgy következtetést vonhatunk az alkaloid chlorhydrát tisztaságára.

Ezek a mérések azt a gondolatot adták, hogy az aneurinban lévő sósavat argentometrikusan is meg lehet határozni, mert a Cl⁻ ion az Ag⁺ ionnal oldhatatlan csapadékot képez.



Ha az az Ag⁺ iont fölöslegben adjuk, úgy az AgCl oldhatósága a tömeghatás törvény értelmében a minimumra redukálódik.

$$\frac{C \text{ Ag}^+ \cdot C \text{ Cl}^-}{C \text{ AgCl}} = K.$$

Ebben az esetben az Ag⁺ ion fölöslege Volhard szerint mérhető. Az aneurin molekuláját nézve azt látjuk, hogy a molekulában a kötött sósavon kívül az egyik gyűrűben Cl atom foglal helyet.
/C₁₂H₁₇ON₄SCl . HCl/.

Ez az organikus kötésű Cl atom szintén meghatározható argentometrikus úton. Ismerjük a PhHg IV. ben a bismutoxyjodidgallat mennyileges meghatározását, ahol a módszer az organikus kötésű jód mérésére van alapítva. A vegyületek fölös Ag^+ ion jelenlétében cc HNO_3 -al melegen elroncsoljuk, a felszabaduló J az Ag ionnal oldhatatlan AgJ csapadékot képez és az Ag feleslegét Volhard szerint mérjük.

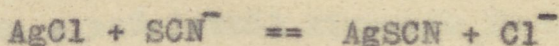
Ha már most az aneurint fölös Ag ion jelenlétében cc HNO_3 -al roncsoljuk, úgy egyszerre az ionogen Cl és az organikus kötésű Cl atom is meghatározható.

Reakció egyenletek a következők:

- I. org.köt $\text{Cl} + \text{Cl}^- + 2 \text{Ag}^+ = 2 \text{AgCl}$
- II. $\text{Ag}^+ + \text{SCN}^- = \text{AgSCN}$
- III. $\text{Fe}^{+++} + 3 \text{SCN}^- = \text{Fe/SCN/}_3$

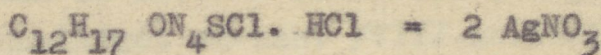
A meghatározás elve tehát az lenne, hogy a B_1 vitamin fölös AgNO_3 jelenlétében cca HNO_3 -as közegben elroncsolom, AgCl csapadék válik le. Az AgNO_3 fölöslegét pedig NH_4SCN -al mérem $\text{FeNH}_4/\text{SO}_4/2$ indokátor jelenlétében, és pedig szűrés után, mert a titráláskor az SCN az AgCl-al is reagál.

nemcsak az Ag ionnal.



Az ezüstsulfocyanid ugyanis oldhatatlanabb vegyület, mint az AgCl.

Titráláskor az ammoniumsulfocyanid az argentumnitrattal fehér NH_4SCN csapadékot ad és ha már az Ag ion quantitative elfogyott, az indikátorként használt ferri sóval lép reakcióba a fölös SCN és a fehér csapadékos folyadék vörös színű lesz a $\text{Fe} / \text{SCN} / 3$ -tól.



337.3 gr	2 lt n Ag NO ₃
----------	---------------------------

168.65 gr	1 lt n "
-----------	----------

16.865	1 lt n/10 "
--------	-------------

1.6865	1 lt n/100 "
--------	--------------

0.0016865	1 ccm n/100 AgNO ₃ -faktor
-----------	---------------------------------------

A meghatározás gyakorlati kiviteli a következő: 0.1 %-os aneurinoldatból 50 ccm-es üveg dugós mérőlombikba mikrobürettával lemérek 5,4,3,2 ccm-nyi mennyiséget, hozzáadok fölös 20 ccm n/100 AgNO₃ és 1 ccm cc HNO₃-at aszbesztódrótháló fölött enyhe lángon 5 percig forralom, hűtöm, vízzel jelig kie-

egészíteni. A csapadékos folyadékot szűrőpapíron szűröm, a szűrletből kiveszek 25 ccm-t 50 ccm-es Erlenmeyer-lombikba és 1 ccm hidegen telített vas-timsó oldat indikátor jelenlétében $n/100 \text{ NH}_4 \text{ SCN}$ -al titrálok gyenge vörös színig. A titráláshoz elhasznált $n/100 \text{ NH}_4 \text{ SCN}$ oldat ccm-ének számát kettővel szorzom, - mivel fele mennyiséget titráltam - és levonom a 20 ccm $n/100 \text{ AgNO}_3$ -ból.

A különbség adja a két Cl lekötésére elhasznált $n/100 \text{ AgNO}_3$ ccm-nek számát, ha ezt megszorozzuk az aneurin faktorával, megkapjuk az aneurin mennyiségét mg-ban. /VIII.sz.táblázat./

A táblázatban felmutatott eredmények kb. 5 %-os hibát mutatnak. Amely hibahatár, tekintve az aneurin kis mennyiségét, lényegtelen s gyakorlatilag elhanyagolható.

Összehasonlítva a két mérési methodust, azt látjuk, hogy az aneurin argentometrikus meghatározása $n/100 \text{ AgNO}_3$ -al való mérése sokkal pontosabb eredményeket ad, mint a neutralizációs eljárás. Ennek oka az, hogy $n/100 \text{ HCl}$ és NaOH oldatokkal való méréskor az igen kicsi H^+ és OH^- ion koncentráció miatt az indikátor átcsapása hosszúra nyulik és nehe-

zen érzékelhető. Viszont az argentometriás mérésnél az egyenértékpont hirtelen intenzív és pontos, ezen tulajdonságok miatt a Volhard-féle Ag^+ ion mérés vetekszik a legjobbnak tartott jodometrikus mérőmódszerekkel is. Ezért az aneurin mérésére a Volhard-féle módszert előnyösnek találom, mert rövid idő alatt el lehet végezni és pontosság dolgában teljesen megbízható eredményeket ad.

E két módszer összehasonlítására szolgál a IX.sz. táblázat.

A B_1 vitamin tartalmu tablettákból lemértem 10 tablettát. Neutralizációs eljárásnál egyszerűen oldottam a tablettákat vízben, hozzámértem a fölös lugot, 5 percig forraltam az oldatot és lehűlés után titráltam. Az argentometrikus eljárásnál a tabletták oldatát szűrtem, hozzáadtam fölös AgNO_3 oldatot és 2.5 ccm HNO_3 -t 5 percig forraltam s a további eljárást úgy végeztem, mint a tiszta B_1 vitamin oldatnál. /X.sz.táblázat./

V.sz. Táblázat.

Bemért aneurin mg-ban	Retitrálásra elfogyott Na ₂ S ₂ O ₃ oldat ccm-ben		Talált aneurin mg-ban	A megkötött jód- oldat ccm-ben		% + -
	n/005	n/05		n/005	n/05	
0.10	9.60	-	0.09	0.40	-	-10
	9.65		0.11	0.35		+10
0.20	9.35	-	0.20	0.65	-	0
	9.25		0.22	0.75		+ 5
0.40	8.65	-	0.38	1.35	-	-9.5
	8.80		0.34	1.20		-8.5
0.60	7.85	-	0.60	2.15	-	0
	8.10		0.54	1.90		- 9
0.80	7.20	-	0.78	2.80	-	-9.73
	7.35		0.75	2.65		-9.37
1.00	-	9.60	1.10	-	0.40	+10
	-	9.65	0.90		0.35	-10
2.00	-	9.25	2.106	-	0.75	+5
	-	9.30	1.90		0.70	-5
4.00	-	8.55	4.00	-	1.45	0
	-	8.60	4.10		1.40	+1.02
5.00	-	8.20	5.0	-	1.80	0
	-	8.20	5.0		1.80	0
7.00	-	7.45	7.10	-	2.55	+1.01
	-	7.50	7.00		2.50	0
10.00	-	6.50	9.80	-	3.50	-9.8
	-	6.40	10.00		3.60	0

VI.sz. Táblázat.

Készítmény neve	Megadott B ₁ vitamin mg-ben	Talált B ₁ vitamin mg-ben	Közép- érték	+ -%
B ₁ vitamin tabletta Egyetemi gyógy- tár	1.00	0.95 0.91 0.98	0.947	-0.50
B ₁ vitamin tabletta /Biamin/ Richter	1.25	1.10 1.20 1.10	1.13	-9.60
B ₁ vitamin forte inj. Egyetemi gyógy- tár	10.00	9.85 9.85 10.00	9.90	-1.00
B ₁ vitamin inj. Richter	10.00	9.90 9.85 9.85	9.87	-1.3
B ₁ vitamin inj. Chinoín	2.00	1.85 1.95 1.80	1.87	-6.5

VII.sz. Táblázat.

0.1% aneurin ccm-ben	Aneurin mg-ben	Számított n/100 NaOH ccm-ben	Elhasznált n/100 NaOH ccm-ben	Talált aneurin mg-ben	Különbség a számított értéktől mg-ban
5	20.0	5.95	6.10 6.30 6.20	20.9	+ 0.9
4	16.0	4.76	4.90 5.05 4.95	16.7	+ 0.7
3	12.0	3.57	3.85 4.00 3.90	13.2	+ 1.2
2	8.0	2.38	3.00 2.80 2.90	9.8	+ 1.8
1	4.0	1.19	2.05 1.95 2.0	6.8	+ 2.8

0.1 % anuerin ccm-ben	Anuerin mg-ben	Számított n/100 AgNO ₃ ccm-ben	Elhasznált n/100 AgNO ₃ ccm-ben	Talált anuerin mg-ben	Különbség a számított értéktől mg-ban
5	20.0	11.90	$\begin{array}{r} 11.95 \\ 11.95 \\ \hline 11.95 \end{array}$	20.15	+ 0.15
4	16.0	9.52	$\begin{array}{r} 9.60 \\ 9.65 \\ \hline 9.625 \end{array}$	16.23	+ 0.23
3	12.0	7.14	$\begin{array}{r} 7.20 \\ 7.30 \\ \hline 7.25 \end{array}$	12.23	+ 0.23
2	8.0	4.76	$\begin{array}{r} 4.90 \\ 4.85 \\ \hline 4.875 \end{array}$	8.22	+ 0.22
1	4.0	2.38	$\begin{array}{r} 2.50 \\ 2.50 \\ \hline 2.50 \end{array}$	4.20	+ 0.2

0.1 % anuerin ccm-ben	Anuerin mg-ban	Neutr.elj. talált B ₁ vitamin mg-ban	Argent.elj. talált B ₁ vitamin mg-ban	Különbőség a számi- tott értéktől	
				Neutr.mg	Argent.mg.
5	20.0	20.9	20.15	+ 0.9	+ 0.15
4	16.0	16.7	16.23	+ 0.7	+ 0.23
3	12.0	13.2	12.23	+ 1.2	+ 0.23
2	8.0	9.8	8.22	+ 1.8	+ 0.22
1	4.0	6.8	4.2	+ 2.8	+ 0.20

X.sz.Táblázat.

Készítmény	Megadott B ₁ vitamin mg-ban	Neutr.elj. talált B ₁ vitamin mg-ban	Argentometr. eljárással talált B ₁ vitamin mg-ban
B ₁ vitamin tabl. Egyetemi gyógytár 10 tabl.	10.0	11.5	10.8
B ₁ vitamin tbl. /Biamin/ Richter 10 tabl.	12.5	13.0	12.7
B ₁ vitamin forte inj. Egy.gyógytár 1 amp.	10.0	11.0	10.4
B ₁ vitamin inj. Richter 1 amp.	10.0	10.2	10.6
Vitaplex B ₁ inj.Chinoín 2 amp.	4.00	5.2	5.0

C vitamin.

Holst és Frölich mutatták ki, hogy a friss burgonya, kelkáposzta, répa, málna, citrom C vitamint tartalmaznak. Szt az érdekes tényt találták, hogy a különböző C vitamint tartalmazó növények, gyümölcsök, stb C vitamin tartalma hevítéssel, szárítással és konzerválással szemben más- és más módon viselkednek.

Holst és Frölich megállapították, hogy a burgonya, répa, káposzta antiscorbutikus hatóanyaga szobahőmérsékleten való szárítással nagyobb mértékben csökken, mint 37°C -on.

Moriquand és Michel szerint a citromlé egy és félóra hosszat 120°C -on forralva az antiscorbuticumok 90 %-a elbomlik. A fehér káposzta kipréselt nedve elveszti profilaktikus C vitamin hatását, ha 10 percig $60-70^{\circ}\text{C}$ -on hevitik. Ugyanez történik akkor is, ha a levet közönséges hőmérsékleten konzerváló anyagok hozzáadásával vagy jégszekrényben raktározzák el.

Harden és Robinson szerint gyümölcsleveket két év után 50 %-ot, 29°C -on pedig 85 %-ot veszítenek.

nek, C vitamin tartalmukból. Citromlé tablettá formában elkészítve Basseth-Smith szerint egy évig megtartja hatását, ha elkészítése normális hőmérsékleten történik. Azonban a citromlé, ha 7 % citromsavat tartalmaz, egy órai 110°C -on való hevítéssel, észrevehető mennyiséget nem veszít hatásából.

Ez vezette Holstot és Frölichet arra a gondolatra, hogy sav hatására a C vitamin stabilizálódik. Ezen elgondolást az is megerősítette, hogy más savanyuan kémhatású növényi nedvek ugyan ezt az állandóságot mutatják magasabb hővel szemben. Ők megállapították azt is, hogy az antiscorbutikumok hő stabilitását sav hozzáadásával jelentősen fokozni lehet. Ezt a tapasztalatot kivonatoknál hasznosították. Hogyha frissen szárított fehér káposztát tiszta alkohol helyett citromsavas alkoholal vonták ki, akkor az így nyert kivonat tengerimalacon jóval hatásosabb volt, mint tiszta alkoholos kivonással nyert készítmények.

C vitamin állandóságát savak jelenlétében Bezsonow is felhasználta, ugyanis savas oldatban ez az oxydase hatástalan.

Erma, Smith és Medes szerint más fermentumok itt játszanak szerepet, ellenben invertose hozzáadása kedvezőleg hatott, mert lassabban bomlott.

1913-ban Holst és Frölich közölték, hogy 37°C-on szárított és exsicatorban őrzött fehérkaposzta a C vitamint 13 hónap múlva is tartalmazta és alkohol és glycerin elegyével sikerült hatásos kivonatot előállítani Hig alkohollal is kaptak hatásos kivonatot, ha 1/2 % citromsavat adtak hozzá.

Holst és Frölich megállapítását később Freis és Freudenberg felhasználta a takarmányrépa C vitamin alkoholos izolálására.

Harden és Zilva beigazolták, hogy ha narancslében lévő citromsavat calciumcarbonattal közömbösítették és a keveréket egy térfogat alkohollal kezelték, majd szűrték és a szűrletet vacuumban 37°C-on kezelték, hatásos oldatot kaptak, mely csak idővel veszített hatásosságából.

Később Halden és Robinson megállapították, hogy a C vitamin destillálásnál nem illan el és a száraz maradék majdnem ugyanolyan hatású, mint az eredeti gyümölcslé, viszont szárazon 6 hónapig is eltartatható a nélkül, hogy hatásából veszítene.

Nagy üzemekben előállított C vitamin tartalmu kivonatok Halden és Robinson szerint 63 %-ot veszítenek hatásukból.

Mc Clendon és Dick leírták, hogyan szárítják nagyüzemekben a narancslevet. Az így nyert készítményeket Mc Clendon, Wowers és Sedgwick hatássosságra vizsgálták és megállapították, hogy a C vitamin citromsav hiánya esetén is, oxydase jelenlétében sem bomlik el.

1921-ben Vedder megkísérelte a C vitamin tartalmu oldatokat betöményíteni. Vedder narancsléből kiindulva azt találta, hogy a C vitamin alkoholban oldódik, azonban aktivitása alkoholos oldatban hamarabb csökken, mint vizesben. Nem oldódik aetherben, chloroformban és széndisulfidban, ezzel szemben jól oldódik acetonban és ecetaetherben.

Bezsonow következőképpen járt el a C vitamin koncentráálásánál. Hidraulikus sajtóval nyert káposztalevet neutralis ólomacetat oldattal kezelt, majd az ólom eltávolítása után a szűrletet vacuumban szirupsűrűre bepárolta. A termelés 2.5 %-os volt, amiből 10 gr már tengerimalacot meggyógyította.

Givens és Mc Cluge két különböző módon szárították a narancslevet. Először lapos csészében $55-60^{\circ}\text{C}$ -on 50 óráig, így vitamintartalmukat csaknem elveszítették. Másodszor rövid ideig tartó hevítéssel $75-80^{\circ}\text{C}$ -on. Így kezelve csaknem teljesen megtartotta hatásosságát. Ezen készítmény még 3 és fél hónap után sem veszített C vitamin tartalmából.

Tartós C vitamin készítményeket állított elő Dubin és Lewi, valamint Basseth-Smith narancsléből, amelyek hosszúállás után is hatásosaknak bizonyultak.

Harden és Zilva narancslevet n/50 natriumhydroxyddal lugosítottak, 24 óra múlva C vitamin tartalma csökkent.

Hess és Unger, valamint La Mer, Campbell és Sherman hasonló kísérleteket végeztek és azt tapasztalták, hogy alkalikus közegben az aktivitás csökken, ellenben, ha a levét gyenge lúgos közegben felfőzik, s utána rögtön közömbösítik, úgy csak alig veszít hatásából.

Vedder szerint a lé közömbösítése nem jelentéktelen. Mc Clendon és Sharp megvizsgálták,

kivül nagymennyiségű C vitamint előállítani. Így azután nagyobb mennyiség C vitamin állott a kutatások rendelkezésére, ami a C vitamin-kérdés teljes tisztázását igen megkönnyítette.

A C vitamin kimutatható és meghatározható titrimetrikus, kolorimetrikus és spektrografikus úton. Titrimetrikus meghatározása redukáló hatá-
sán alaps^{ik}.² Ugyanis a C vitamin a színes vegyületeket szintelenné redukálja.

Drigalski a tiszta ascorbinsavat jodometrikus úton határozta meg. Lényege az, hogy a C vitamin a natriumjodidból felszabadítja a jódot, amit keményítő indikátorral mutat ki. A C vitamin erős redukáló tulajdonsága, amit kettős kötése idéz elő. Ez a kettős kötés savanyú /kénsavas/ közegben jóddal telíthető. Addig adagoljuk a jód mennyiségét, míg a telítés quantitative végbe nem megy. A jód feleslege telíteni már nem tud, az indikátorul használt keményítővel lép reakcióba és azzal kék színű vegyületet képez. A meghatározást maradandó kék szín jelzi.

ahol $f = 0.0088$ gr acid ascorb.

a = a mérés alá vitt C vitamin gr-ban.

Az ascorbin tablettát 5 ccm vízben feloldva és 5 ccm hig kénsavval megsavanyítva - savanyu közegben a C vitamin ugyanis bomlás nélkül oldódik - szűrőpapiroson quantitative átmostam 100 ccm-es üveg dugós Erlenmeyer-lombikba. Keményítő-oldat jelenlétében titráltam n/10 J oldattal. Az elfogyott n/10 jódooldat ccm-ének a számából a tablettát C vitamin tartalmát az előbbi képlet segítségével határoztam meg.

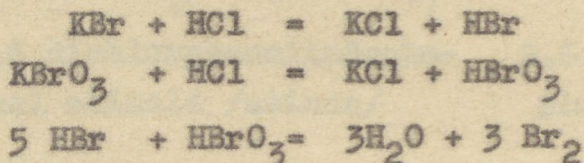
Schulek és Floderer 1939-ben közölték, hogy kolorimetrikus módszerrel kis mennyiségű ascorbinsav pontosan meghatározható. A meghatározás alapja az, hogy a ferrivas ascorbinsav által ferro vassá redukálódik, melynek nehézsége α, α -dipyridyl segítségével képzett complexel photometrikusan mennyilegesen mérhető.

Schulek és Kovács vizsgálatai szerint gyógyszeres készítmények ascorbinsav tartalmának megállapítására bromometrikus mérés igen alkalmas.

Előnye, hogy a kaliumbromat mérőoldat tite-

re állandó, s a levegő oxydáló hatása nem érvényesül úgy, mint az erősebben savanyu oldatok jodometrikus mérésénél.

A meghatározás elve az, hogy a C vitamin a KBrO_3 -ot redukálja KBr -a. Mikor a C vitamin oxydációja quantitative végbemegy, a káliumbromát fölöslege a redukálódott káliumbromáddal lép reakcióba a savanyu közegben a következőképpen:

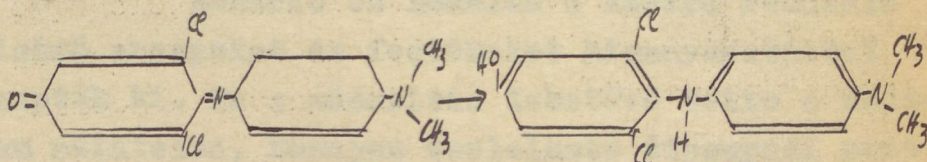


A C vitamin oxydatioja után elemi brom szabadul fel. A methylorange szerepe itt az, hogy a C vitamin oxydációja alatt piros színt mutat, az oxydáció befejeztével felszabaduló brom a festéket elroncsolja, elszínteleníti, tehát a reakció vége így pontosan érzékelhetővé válik.

Meghatározást a következő módon végeztem el: a lemért C vitamint oldottam 100 ccm-es Erlenmeyer-lombikban 10 ccm vízben. 5 ccm 10 %-os sósavval megsavanyítva methylorange indikátor jelenlétében n/10 káliumbromát-oldattal titráltam színváltozásig. Eredményeimet a XI.sz.táblázatban

foglaltam össze.

Az első ascorbinsav meghatározást Tillmann végezte 2-6 dichlorphenolindiphenollal neutrális oldatban. Az ascorbinsav a kék színű dichlorphenolindiphenol oldatot szintelen vegyületté redukálja.



2,6 dichlorphenolindophenol chinoid /színes/

2,6 dichlorphenolindophenol benzoid /színtelen/

Egyes szerzők különböző módon változtatták meg ezt az eljárást a vizsgálandó anyagnak megfelelően.

Harris és Ray a titrálást erősen savanyu közegben végezték. Savanyu közegben a dichlorphenolindophenol piros színű, ezt az ascorbinsav szintén szintelen vegyületté alakítja. 0.01 gr dichlorphenolindophenolt feloldottak 50 ccm vízben. Meghatározták ismert ascorbinsav tartalmu oldattal a dichlorphenolindophenol oldat titerét. Ismert mennyiségű ascorbinsav oldathoz addig csepegtettek a bürettából reagenst, míg a kék színű, savanyu

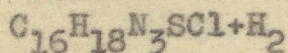
közegben a piros szín megmarad, vagyis több redukáló ascorbinsav nincs, tehát megjelenik a savanyu oldatban a dichlorphenolindiphenol színe. Ennek az eljárásnak az a lényege, hogy savanyu oldatban az ascorbinsav nem bomlik.

Emmerie és Eekelen a zavaró redukáló kísérő anyagokat és festékeket higanyacetáttal csapták ki. Ez a módosítás lehetővé tette a majdnem szintelen, könnyen észlelhető átcsapási ponttal bíró oldat titrálását.

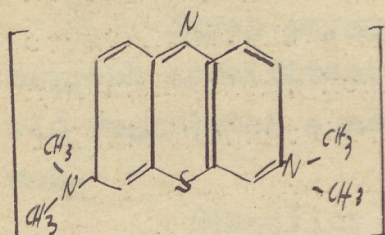
Tauber és Kleiner eljárása szerint, ha a titrálást 2,6 dichlorphenolindophenollal az ascorbinase behatása előtt is és utána is elvégezzük, akkor a két titrálás különbségéből az ascorbinsav-tartalom kiszámítható. Az ascorbinase ugyanis az ascorbinsavat gyorsan és mennyilegesen meghatározható módon oxydálja, tehát a megmaradt redukáló képesség más organikus anyagoktól van. Ha ezt az értéket levonjuk, az ascorbinase hozzátevése előtti redukáló képességből, akkor pontosan megkapjuk az ascorbinsav mennyiségét.

Másik titrimetrikus módszer a C vitamin meghatározására a Martini-Bousignore-féle methylen-

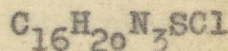
kék módszer. Ez az eljárás is a redukción alapszik. Az ascorbinsav a methylenkéket gyengén savi közegben szintelen vegyületté redukálja bizonyos erősségű megvilágítás mellett.



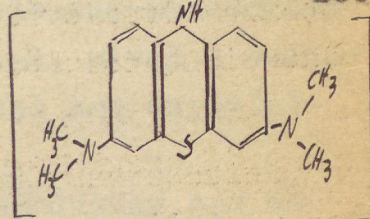
methylenkék



methylenkék
chinoid

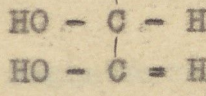
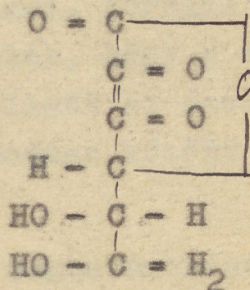
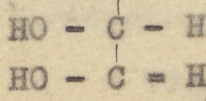
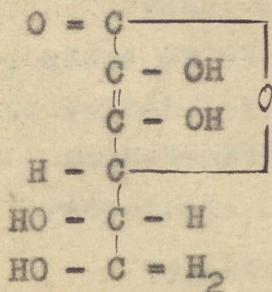


szintelen leukovegyület.



leukomethylenkék
benzoid.

Az ascorbinsav tehát H_2 -t veszít s áttá-
kuk dehydroascorbinsavvá.



dehydroascorbinsav.

Az elszintelenedett methylenkék mennyisége vagy direkt titrálással vagy Pulfrich photometerrel határozható meg. A methylenkék és az ascorbinsav aequimolekulárisan reagál.

Előnye a 2,6 dichlorfenolindophenollal szemben, hogy a methylenkék oldat sokkal állandóbb.

Egyes anyagoknál a methylenkék-módszernek nagyobb specifitást tulajdonítanak, mivel a szulfid-vegyületek a methylenkék által nem oxidálódnak.

Neuweiller szerint a két-módszer nem ad jelentékeny eltérő különbséget.

Fujita és Ebihara nem látták ezt az arányosságot az ascorbinsav és a methylenkék elszintelenedése között.

Ezzel szemben Policard, Ferrand és Arnold egy görbe által bebizonyították, hogy a meghatározott feltételek betartása mellett az ascorbinsav és a methylenkék elszintelenedése között fennáll az arányosság.

Végeztem C vitamin meghatározást 2,6 dichlorfenolindophenollal a következő módon. Készítettem egy titráló folyadékot úgy, hogy lemértem

0.10 gr festéket, oldottam 200 ccm dest.viz és 96 %-os alkohol egyenlő arányu elegyében 200 ccm-es lombikban. Majd betitráltam pontosan lemért ascorbinsavval. A négy tizedesnyi pontossággal lemért C vitamint 100 ccm-es Erlenmeyer-lombikban oldottam 20 ccm- dest.vizben és megsavanyítottam 2 ccm 20 %-os ecetsavval, az ascorbinsav bomlásának megakadályozása céljából.

A mikrobürettába feltöltött 2,6 dichlorphenolindophenol oldattal titráltam cseppenként mindaddig, míg a dichlorphenolindophenol halvány rozsaszíne legalább félpercig megmaradt.

Végeztem előbb kísérletsorozatot a módszer érzékenységének, illetve használhatóságának az ellenőrzésére úgy, hogy 0.10 gr ascorbinsavat mértem be és titráltam meg. Fokozatosan csökkentettem az ascorbinsav mennyiségét 0.01 gr-ig.

A módszer kis mennyiségek mérésénél éppen olyan hibahatárral használható, mint nagyobb mennyiségek mérésénél, amint a XII.sz.táblázat is mutatja.

A különböző gyári C vitamin-készítmények ascorbinsav-tartalmát a XIII.sz.táblázatban foglaltam össze.

XI.sz.Táblázat.

Bemért C vitamin gr-ban	Elfogyott n/10 KBrO ₃ oldat ccm-ben	Talált C vitamin gr-ban	+ - %
0.01	1.2 <u>1.2</u> 1.2	0.0105	+ 1.0 5
0.03	3.6 <u>3.6</u> 3.6	0.0316	+ 1.05
0.05	5.6 <u>5.6</u> 5.6	0.0493	- 0.99
0.10	11.5 <u>11.5</u> 11.5	0.1012	+ 1.12
0.20	23.9 <u>24.1</u> 24.0	0.2113	+ 1.06

XII.sz.Táblázat.

Bemért C vitamin mennyiség gr-ban	Titrláshoz elfogyott 2,6 dichlor- phenolindo- phenol old.	Középérték
0.01	0.50 0.53 0.50	0.513
0.02	0.97 1.00 1.05	1.007
0.04	2.05 1.92 2.03	2.00
0.05	2.53 2.49 2.51	2.51
0.10	4.96 5.03 5.05	5.013

XIII.sz. Táblázat.

Készítmény neve	Megadott C vitamin gr-ban	Titrálás- hoz elhaszn. 2,6 dichlor- phen. ccm-ben	Talált C vit. gr-ban	+ - %
Vitamin C tabl. /Proscorbin/ Richter	0.025	1.22	0.0242	-3.36
Wandervit C tabl. /Citamino/ Wander	0.050	2.45	0.0488	-2.40
Vitaplex C tabl. /Cevita/ Chinoïn	0.10	4.80	0.0957	-4.25
Cantan tabl. I. G.	0.050	2.43	0.0488	-2.40
Cebion tabl. Merck	0.050	2.40	0.0478	-4.40
C vitamin tabl. Egyetemi gyógy- tár Nitrogen atm- ban eltartva	0.10	5.06	0.1091	+1.09

Összefoglalás

A, B₁, C, D vitamin tartalmu gyógyszerkészítményeket vettem vizsgálat alá.

1./ Az A vitamin tartalmu gyógyszerkészítmények tartalmi meghatározásánál Soljanikowa-Nikolskaja jóoldatos titrálását használtam fel. Ennek az eljárásnak elve az A vitamin ^{oldós} kettősségének jóddal való titrálásán alapszik. Az eljárás gyakorlatilag könnyen kivihető, az eredmények elfogadhatók.

2./ A D vitamin tartalmu készítmények tartalmi meghatározását Pulfrich-féle photométerrel végeztem. A mérés fényabsorption alapszik. A D vitamin tartalmu folyadékok különböző hullámhosszúságú sugarakat nyelnek el. Az absorptio nagysága q quantitative mérhető. A D vitamin tartalmu olajoknál kb.-10 % hibahatárral, a tablettáknál pedig -20 % hibahatárral sikerült a meghatározásokat végrehajtani.

3./ A B₁ vitamin tartalmát meghatározását Slotta és Neizser szerint végeztem jodometrikusan. A meghatározás azon alapszik, hogy a B₁ vitamin alkalikus jóddal konstans molekuláris viszonyban

reagál 1:6 arányban. Az aneurint tartalmazó oldatot olvadó jég hőmérsékletén fölös jóddoldattal reagáltatják, majd NaOH-val a jódot NaOI-vé alakítják. Állás után kénsavval megsavanyítják és a felszabadult fölös jódot natriumthyosulfáttal mérik.

Az aneurin tartalmi meghatározására két módszert dolgoztam ki.

Az első neutralizációs eljárás. Azon alapszik, hogy az aneurin molekulában 1 molekula lazán kötött HCl van s ezt fölös n/100 NaOH-val melegítéssel lehasítjuk NaCl-a és a lug fölöslegét methylvörös és methylenkék indikátor mellett n/100 HCl-al mérem. A hasításra elhasználódott n/100 NaOH titeréből következtetünk az aneurinchlorhydrát mennyiségére. A módszer gyors, a kísérleti hiba gyakorlatilag elhanyagolható.

A másik eljárás argentometrikus. Az aneurint fölös n/100 AgNO_3 jelenlétében cc HNO_3 -al melegítve elroncsoljuk. A HCl Cl-ja és az organikus kötésű Cl felszabadul. Ezüstchlorid oldhatatlan csapadék létesül. Szűrés után az AgNO_3 fölöslegét vastímsó indokátor jelenlétében n/100 NH_4SCN -al visszamérjük. Az aneurin 2 Cl-jának leválasztására elhasznált n/100 AgNO_3 térfogatából következtetünk az ane-

urin mennyiségére. E módszer igen fontos eredményeket ad, könnyen kivihető és a titrálás igen jól érzékelhető.

4./ A C vitamin-tartalma gyógyszerkészítményeket kétféleképpen is meghatároztam.

Az egyik meghatározás n/lo jóoldattal történik és az ascorbinsav telítésére van alapítva. Addig titrálunk jóoldattal, keményítő indikátor jelenlétében, míg maradandó kék szint nem kapunk.

A másik eljárás dichlorphenolindophenollal történik savanyu közegben. A meghatározás elve: az ascorbinsav a piros színű dichlorphenolindophenolt szintelen leukovegyületté redukálja, miközben önmaga két hydrogen leadásával dehydroascorbinsavvá alakul. Ez a redukció quantitativ. Addig adagoljuk a C vitamin-tartalma oldathoz, a dichlorphenolindophenol indikátort, míg a redukció végbe nem megy, vagyis a dichlorphenolindophenol piros színe megmarad.

Mindezek az eljárások gyorsan és egyszerűen kivihetők úgy injekciók, mint tabletták vizsgálatánál. A meghatározásnál a tablettákat vízben oldjuk s ha szükséges quantitative átszűrjük.

Munkám befejezésével hálás szívvvel mondok köszönetet Dr.Dávid Lajos e.c.rk.tanár urnak, a szegedi Gyógyszerészeti Intézet és Egyetemi Gyógyszertár igazgatójának azért, hogy értékes szaktanácsaival és szerető támogatásával állandóan segítségemre volt munkám elvégzésében.

Hálás köszönetemet fejezem ki Dr.Kányó Béla e.ny.r. tanár urnak, hogy a Közegészségtani Intézet felszerelését rendelkezésemre bocsátotta.

A Pulfrich-photometerrel való méréseket a Gyógyszertani Intézet eszközével végeztem, melyet Dr.Dirner Zoltán e.m.tanár adjunctus ur bocsátott rendelkezésemre, melyért hálás köszönetemet fejezem ki.

Öszinte köszönetemet fejezem ki Dr.Novák István egyetemi fővegyész urnak, aki szives tanácsaival és irányításával mindenkor segítségemre volt.

I r o d a l o m.

1. W.Stepp, J Kühnau, H.Schröder: Die Vitamine und ihre klinische Anwendung. 1936.
2. R.Ruzicka und W.Stepp: Ergebnisse der Vitamin und Hormon-forschung.
3. F.Haurowitz: Biochemie.
4. Mellonby und Ruzicka: Ergebnisse der Vitamin und Hormonforschung.
5. Funk: Die Vitamine. 1924.
6. Jolles: Die Vitamine. 1932.
7. Ragnar Berg: Die Vitamine.
8. Góth E.: A vitaminok és jelentőségük az orvosi gyakorlatban. 1938.
9. Góth E.: A vitaminok és hormonok. 1942.
10. F.Gstirner: Chemische, physikalische Vitaminbestimmungsmethoden. 1941.
11. Kolthoff, Menzel: Die Massanalyse.
12. Vámosy-Mansfeld: Gyógyszertan tankönyve. 1932.
13. Windaus-Linzert-Lüttringhaus-Weidlich: Ztschft f. Vitaminforschung. 1933.II. 1937.VI.

- W.Halden and Tzoni: A colour reaction for the defection and determination of Vitamin D. - Nature London 137, 909, 1936.
15. K.RitschertÖ Die kolorimetrische Bestimmung des Vitamins A. Mercks. Jber. 49. 1936.
16. H.Willstaedt u. Fr.Bárány: Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode für Vitamin B₁. - Enzymologia 1938. 2.
17. Ueber die kolorimetrische Bestimmung des Vitamins C. Biochem. Z. 300. 1939.
18. Magyar Gyógyszerkönyv. IV. 1934.
19. Arbeitsvorschrift zur kolorimetrischen Vitamin A. Bestimmung mit dem Pulfrich-Photometer Zeiss. Druckschrift Mess. 1936.
20. Novák I.: M.Gy.T.É. 1937. 3. 1942. 5.
21. Vastag G.: M.Gy.T.É. 1941.1. 1942. 5.
22. Schulek, Kovács: M.Gy.T.É. 1940. 4.
- Kedvessy: M.Gy.T.É. 1940. 6.
24. Láng: Vegyi és mikroszkópos vizsgálatok. 1941.
25. Soljanikowa-Nikolskaja: Zeitschrift f.Vitaminforschung. 1937. 6.
26. Zeiss Pulfrich-Photometer für kolomimetrische Bestimmungen und Absorptionsmessungen an Flüssigkeit.
27. E.Mercks Jahresbericht. 1935, 1936, 1939.

